

STATUS VIRULENSI *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary DI JAWA BARAT TERHADAP TANAMAN KENTANG YANG MENGANDUNG GEN *RB*

VIRULENCE STATUS OF Phytophthora infestans (Mont.) de Bary IN WEST JAVA TO POTATO PLANTS THAT CONTAIN RB GENE

Hani Susanti*, Rizkita Rachmi Esyanti**, dan Eri Sofiari***

*Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong Science Centre
Jln. Raya Jakarta-Bogor Km. 46 Cibinong, Jawa Barat
Pos-el: hani.fikriachri@gmail.com

**Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Jln. Ganeca No. 8, Bandung

***Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Jln. Tangkubanparahu No. 517, Lembang, Bandung Barat 40391

ABSTRACT

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary causes late blight (LB) disease which can decrease potato (*Solanum tuberosum* L.) production up to 100%. *RB* gene as source of resistance to LB could be obtained from genetically modified potato cultivars with resistance genes from wild species *Solanum bulbocastanum*. Evaluation virulences of *P. infestans* to potato contain *RB* gene is an important step to know effectiveness of controlling this disease. The research was focussed on determining virulence status of the isolates to the transgenic and hybrid potato plants containing *RB* genes. Isolates were collected from Bandung, Cianjur, and Garut, were cultured on V8-agar medium at $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Virulence test were performed using “detached leaves assay” method. Based on statistic analysis, the average leaf infected by LB in potatoes containing the *RB* gene was significantly lower than potatoes in control group. Results showed that 40,8% transgenic leaves and 54,5% hybrid leaves which containing *RB* gene attacked by LB, whereas the control group was infected 98,7%. The virulence level of *P. infestans* isolates from West Java on potato plants contain *RB* gene is still low compare to that in the control group.

Keywords: *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*, late blight, *RB* genes, virulence-level

ABSTRAK

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary merupakan penyebab penyakit hawar daun pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) yang dapat menurunkan produksi hingga mencapai 100%. Sumber resistensi terhadap penyakit hawar daun dapat diperoleh melalui rekayasa genetik kultivar kentang dengan menyisipkan gen *RB* yang diperoleh dari spesies kentang liar *Solanum bulbocastanum*. Evaluasi tingkat virulensi *P. infestans* terhadap kentang yang mengandung gen *RB* merupakan tahapan penting untuk mengetahui efektivitas pengendalian penyakit ini. Penelitian ini difokuskan untuk menentukan status virulensi isolat-isolat *P. infestans* di Jawa Barat terhadap kentang transgenik dan hasil persilangan yang mengandung gen *RB*. *P. infestans* diisolasi dari daun kentang yang terserang hawar daun di beberapa lokasi di Bandung, Cianjur, dan Garut. Isolat dikultur pada media V8-agar dan diinkubasi pada temperatur $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Uji virulensi dilakukan dengan metode “Detached Leaves Assay”. Berdasarkan uji statistik, rata-rata daun kentang yang mengandung gen *RB* lebih sedikit yang terserang hawar daun dibandingkan dengan daun kentang kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 40,8% daun katahdin transgenik, 54,5% kultivar Atlantik dan Granola hasil persilangan yang mengandung gen *RB* terserang hawar daun, sedangkan kelompok kontrol terserang 98,7%. Tingkat virulensi isolat *P. infestans* terhadap kentang yang mengandung gen *RB* masih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kata kunci: *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*, hawar daun, gen *RB*, virulensi

PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun atau busuk daun, yang disebabkan oleh *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, merupakan penyakit yang paling merusak tanaman kentang. Penyakit ini dapat menurunkan produksi kentang hingga mencapai 100%¹ dari produksi kentang di Indonesia yang mencapai 998.032 ton pada luas lahan 62.000 ha.² Padahal, kentang merupakan salah satu komoditas sayuran yang penting dan berpotensi sebagai sumber karbohidrat dalam menunjang program diversifikasi pangan di Indonesia.

Peningkatan ketahanan tanaman kentang melalui metode bioteknologi telah dilakukan oleh beberapa negara. Pada sepuluh tahun terakhir ini, para peneliti di dunia melakukan pengendalian penyakit hawar daun melalui rekayasa genetika, yaitu dengan menggunakan teknologi transformasi gen *RB* dari spesies kentang liar seperti gen *Rblb* atau *RB* dari spesies *Solanum bulbocastanum* yang diintroduksi ke dalam beberapa kultivar kentang.³ Spesies ini terbukti memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap serangan *P. infestans* melalui pengujian resistensi yang dilakukan di lingkungan yang ekstrem di Lembah Toluca, Meksiko, selama dua tahun.⁴ Berdasarkan hasil pengujian tersebut, gen *RB* berpotensi efektif untuk mengendalikan penyakit hawar daun di negara lain, termasuk Indonesia.⁵

Pengendalian *P. infestans* dapat dilakukan dengan beberapa cara, di antaranya melalui penggunaan fungisida kimiawi, biofungisida ataupun penggunaan agen pengendali hayati. Penggunaan fungisida kimiawi seperti SBI (*sterol biosynthesis inhibitor*) tidak terlalu cocok digunakan dalam pengendalian *Phytophthora*.⁶ Penggunaan SBI sebagai kelompok fungisida berspektrum luas yang biasa digunakan dalam pertanian ternyata tidak efektif digunakan untuk mengendalikan *P. infestans* karena patogen ini tidak memiliki gen yang mengkode enzim yang berperan dalam biosintesis sterol.⁷ Demikian pula penggunaan fungisida yang memiliki target pengendalian terhadap biosintesis kitin, karena di dalam dinding sel *P. infestans* hanya terdapat sedikit sekali kitin.⁷

Solanum bulbocastanum merupakan tanaman diploid yang tidak mungkin melakukan perkawinan silang secara langsung dengan *S. tuberosum* yang bersifat tetraploid. Walaupun

demikian, sifat resistensi terhadap *P. infestans* dapat dipindahkan dari *S. bulbocastanum* ke *S. tuberosum* melalui metode fusi somatik atau melalui transformasi gen *RB*. Keuntungan teknologi transformasi gen adalah keunikan integritas genetik dari varietas yang digunakan tidak rusak dan sifat ketahanan spesifik terhadap serangan *P. infestans* yang terdapat dalam spesies liar dapat digabungkan ke dalam genom varietas tanaman yang diinginkan.³

Introduksi tanaman kentang transgenik yang mengandung gen *RB* sedang dievaluasi di Indonesia melalui proyek ABSP-II (*agricultural biotechnology support project II*) yang didanai oleh United State Agency for International Development (USAID). Balai Besar Bioteknologi dan Genetika (BB-Biogen) dan Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa) telah melakukan seleksi virulensi isolat *P. infestans* terhadap kentang varietas Katahdin yang mengandung gen *RB*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa sejak awal penanaman hingga 64 hari tidak terjadi serangan penyakit hawar daun, tetapi setelah 64 hari mulai terlihat serangan penyakit hawar daun terhadap varietas tersebut.⁸ Pengujian tingkat virulensi terhadap varietas kentang yang unggul perlu dilakukan secara berkala untuk mengetahui ketahanan berbagai kultivar kentang terhadap penyakit hawar daun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui status virulensi isolat *P. infestans* dari beberapa tempat di Jawa Barat terhadap tanaman kentang transgenik yang mengandung gen *RB*.

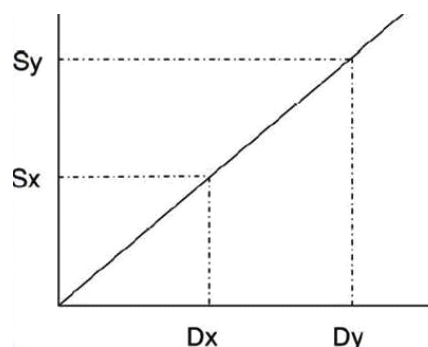
METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang, Januari 2009–Januari 2010. Penelitian ini menggunakan spesies *P. infestans* (Mont) de Bary yang diisolasi dari daun kentang di Pangalengan, Lembang, Cianjur, dan Garut yang merupakan pusat budi daya kentang di Jawa Barat. Tanaman uji yang digunakan adalah kentang Katahdin transgenik (yang mengandung gen *RB*) dan kentang hasil persilangan Katahdin transgenik dengan kultivar Atlantik dan Granola nontransgenik. Kentang Atlantik dan Granola nontransgenik digunakan sebagai kontrol. Pengecekan kehadiran gen *RB* telah dilakukan menggunakan teknik PCR.⁹

P. infestans diisolasi dari sampel daun kentang yang terinfeksi oleh penyakit hawar daun. Daun dicuci dengan air mengalir selama lima menit dan disimpan di bawah irisan kentang steril kemudian diinkubasi pada 15–18°C selama 5–7 hari. Isolat *P. infestans* diperoleh dengan mengambil sedikit miselium dari irisan kentang tersebut menggunakan jarum ose. Miselium dikultur pada media jus V8-agar kemudian dipelihara dalam inkubator pada suhu 15–18°C.^{10,11}

Uji virulensi dilakukan dengan metode Detached Leaves Assay (DLA).⁹ Daun yang digunakan diperoleh dari tanaman kentang berusia 6–10 minggu yang belum berbunga. Daun dibersihkan lebih dulu di bawah air mengalir, kemudian disimpan secara aseptik dalam cawan petri yang mengandung media air-agar. Kertas saring yang mengandung suspensi zoospora *P. infestans* kemudian ditempatkan pada bagian abaksial daun, diinkubasi di bawah cahaya *fluorescent* selama 12 jam dalam waktu tujuh hari pada suhu 18±2°C. Tingkat virulensi ditentukan dengan cara menghitung persentase daun uji yang terserang oleh *P. infestans*. Hasil tersebut diperoleh dari rasio antara panjang zona sporulasi yang sejajar dengan tulang daun utama dan panjang tulang daun utama. Virulensi dicatat pada hari ke-3, 5, dan 7 setelah inokulasi.

Seleksi tanaman uji dilakukan untuk memilih kentang transgenik dan nontransgenik yang dipakai untuk uji virulensi. Seleksi dilakukan di Lapangan Uji Terbatas (LUT) Balitsa. Setiap tanaman uji ditentukan nilai skala kepekaannya terhadap penyakit hawar daun dengan menggunakan skala baru.¹¹ Kultivar yang sangat peka dapat digunakan sebagai kultivar pembanding dalam menentukan derajat resistensi, misalnya kultivar Granola dengan nilai skala kepekaan 8.¹² Penentuan derajat resistensi suatu tanaman kentang diperoleh dengan membuat garis regresi berdasarkan nilai *area under disease progress curve* (AUDPC) dan skala kepekaan dari kultivar pembanding. Nilai AUDPC tanaman uji diekstrapolasi pada garis regresi tersebut, sehingga diperoleh nilai skala kepekaan tanaman uji.



Gambar 1. Grafik Skala Nilai Kepekaan Tanaman Kentang terhadap *P. infestans*

Keterangan:

Sy = skala kepekaan tanaman pembanding

Sx = skala kepekaan tanaman uji

Dy = nilai AUDPC tanaman pembanding

Dx = nilai AUDPC tanaman uji

Garis regresi pada Gambar 1 memiliki nilai gradien Sy/Dy , dan nilai kepekaan tanaman uji (Dx) diperoleh dari hasil perkalian nilai gradien dengan nilai Dy . Nilai AUDPC relatif kemudian dibandingkan dengan nilai AUDPC dari kultivar yang paling peka¹³ sehingga dapat diketahui klasifikasi tingkat kepekaan tanaman, yaitu dengan cara sebagai berikut:

nilai AUDPC relatif

$X = \frac{\text{Nilai AUDPC kultivar yang paling peka}}{\text{Nilai AUDPC kultivar yang paling peka}}$

Keterangan:

1 nilai $X = 0.00$ – 0.20 , tanaman resisten

2 nilai $X = 0.21$ – 0.40 , tanaman resisten moderat

3 nilai $X = 0.41$ – 0.60 , tanaman resisten intermediet

4 nilai $X = 0.61$ – 0.80 , tanaman peka

5 nilai $X = 0.81$ – 1.00 , tanaman sangat peka

Selanjutnya dilakukan efikasi untuk mengevaluasi kemampuan gen *RB* menghadapi serangan hawar daun. Uji virulensi terhadap kentang yang mengandung gen *RB* dilakukan dengan metode DLA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

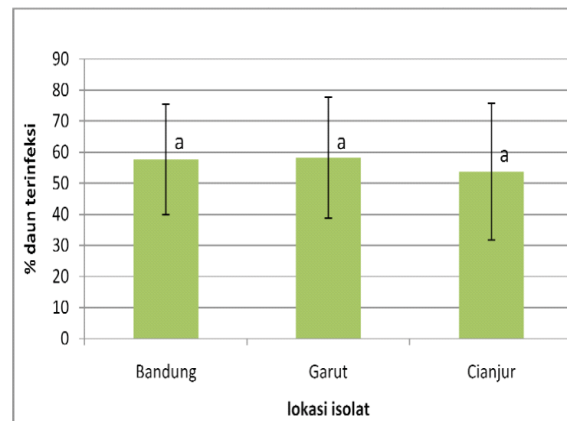
Tabel 1. Jumlah Isolat dari Beberapa Lokasi Budi Daya Kentang di Jawa Barat

LOKASI	JUMLAH ISOLAT
A. BANDUNG	
1. Cikole	4
2. Cibodas Wetan	1
3. Kayu Ambon	2
4. Sukamanah	1
5. Kertasari	5
B. GARUT	
1. Pada Awas	3
2. Simpang	3
3. Kramat Wangi	2
4. Cibuluh	3
C. CIANJUR	
1. Ciputri	6
TOTAL	30

Isolat *P. infestans* yang diperoleh dari sampel daun terinfeksi *P. infestans* pada lima lokasi di Bandung, empat lokasi di Garut, dan satu lokasi di Cianjur berjumlah 30 (Tabel 1).

Proses isolasi dapat berjalan baik apabila daun uji yang dipilih banyak mengandung spora aktif (Gambar 2) *P. infestans* di sekitar zona nekrotik. Hasil pengamatan mikroskopis memperlihatkan bentuk miselium tanpa septa, sporangium, sporangiofora, dan zoospora yang bergerak bebas (Gambar 3).

Jumlah sporangium yang dihasilkan dalam kultur *P. infestans* bervariasi pada setiap isolat. Hal ini akan berpengaruh terhadap tingkat kesuksesan proses infeksi sehingga menyebabkan timbulnya penyakit hawar daun. Virulensi *P. infestans* akan meningkat secara gradual dengan meningkatnya konsentrasi sporangium.¹³



Gambar 4. Tingkat Virulensi Isolat Jawa Barat

Berdasarkan hasil uji virulensi menggunakan metode Detached Leaves Assay dapat terlihat bahwa isolat dari Bandung dapat menginfeksi daun kentang uji rata-rata hingga mencapai 57,7%, isolat Garut rata-rata mencapai 58,2%, dan isolat Cianjur mencapai 53,9% (Gambar 4). Tingkat virulensi isolat dari Bandung, Cianjur,



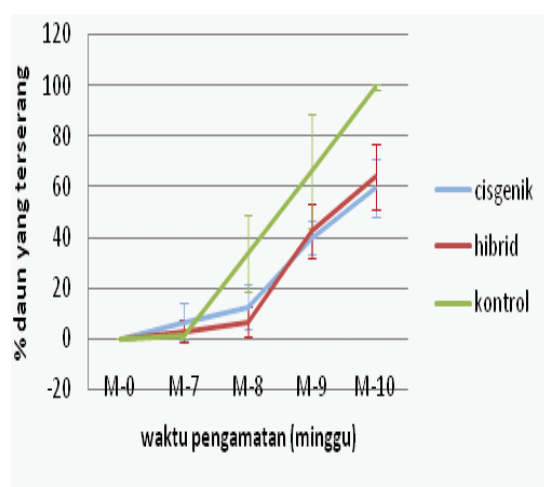
Gambar 2. Daun Kentang yang Terserang *P. infestans* (a) pada musim hujan (b) pada musim kemarau



Gambar 3. Morfologi *P. infestans*: (A) Miselium, (B) Sporangiofora, (C) Zoospora, (D) Sporangium

dan Garut tidak berbeda nyata secara statistik. Hal ini menunjukkan bahwa isolat-isolat dari Jawa Barat dapat digunakan sebagai isolat uji karena memiliki kemampuan yang relatif sama untuk menginfeksi tanaman kentang.

Pada penelitian ini, salah satu kelompok tanaman uji yang digunakan adalah hasil persilangan antara kultivar Atlantik atau Granola dan transgenik Katahdin yang mengandung gen *RB*. Diharapkan turunan yang dihasilkan akan membawa sifat-sifat unggul dari kedua induk persilangan. Katahdin merupakan varietas kentang komersial di Amerika Serikat, sedangkan Granola dan Atlantik merupakan kentang komersial yang banyak dibudidayakan di Indonesia.



Gambar 5. Perkembangan Hawar Daun di LUT

Berdasarkan grafik perkembangan hawar daun (Gambar 5) dapat diketahui bahwa tanaman

kontrol mengalami peningkatan serangan hawar daun secara signifikan pada minggu ke-7, sedangkan tanaman uji baik dari hasil transformasi maupun hibrida mengalami peningkatan serangan secara signifikan mulai minggu ke-8. Umur delapan minggu atau merupakan periode pasca-berbunga dan tahap awal pembentukan umbi, ketahanan tanaman menjadi berkurang sampai tanaman mengalami penuaan.¹⁴

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Herman,⁷ tanaman kentang yang mengandung gen *RB* mulai terserang pada hari ke-64 atau minggu ke-9. Sementara pada penelitian kali ini, pada minggu yang sama tanaman tersebut sudah mengalami intensitas serangan yang tinggi. Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan kecepatan serangan hawar daun di awal musim tanam. Kondisi ini dapat disebabkan oleh adanya interaksi antara faktor perubahan iklim, kondisi inang, dan patogen atau karena adanya perbedaan dalam teknik pengendalian penyakit, misalnya jarak penanaman tanaman uji yang berbeda. Pada akhir pengamatan perkembangan serangan hawar daun di minggu ke-10, terlihat bahwa daun tanaman kontrol terserang hawar daun rata-rata hingga mencapai 100%, sedangkan daun kentang tanaman transgenik rata-rata hanya terserang 59,5%, sedangkan daun kentang hibrida rata-rata terserang 63,9%. Hal ini menunjukkan adanya efisiensi yang cukup tinggi dalam proses transformasi, hibridisasi, dan ekspresi gen *RB* yang berperan dalam pertahanan diri tanaman kentang terhadap serangan hawar daun.

Penanaman kentang di LUT dilakukan pada dua musim, yaitu musim kemarau dan musim hujan untuk membandingkan ketahanan tanaman terhadap hawar daun pada kedua musim tersebut. Pada musim hujan intensitas serangan hawar daun lebih tinggi daripada musim kemarau. Kondisi tersebut ditandai dengan nilai *area under disease progress curve* (AUDPC) yang cukup tinggi pada setiap tanaman uji di musim hujan dibandingkan dengan musim kemarau (Tabel 2). Pada musim hujan, kondisi suhu rendah dan kelembapan tinggi di sepanjang musim tanam memudahkan spora *P. infestans* tumbuh dan menyebar.

Berdasarkan klasifikasi tingkat kepekaan tanaman terhadap penyakit hawar daun,¹⁵ tingkat kepekaan tanaman uji yang mengandung gen *RB* (transgenik dan hibrida) mencapai moderat hingga resisten, sedangkan pada tanaman kontrol mencapai sangat peka hingga resisten (Tabel 3). Berdasarkan seleksi tanaman uji dapat disimpulkan bahwa kelompok tanaman uji dapat digunakan dalam uji efikasi gen *RB* terhadap penyakit hawar daun karena memperlihatkan respons terhadap kehadiran *P. infestans* di LUT dengan ditandai oleh tingkat kepekaan yang bervariasi.

Gambar 6. Perbandingan Virulensi Isolat *P. infestans* terhadap Tanaman Transgenik dan Hibrida

Berdasarkan Gambar 6 dapat terlihat bahwa daun tanaman hibrida yang terserang dapat mencapai 54,5% dan daun tanaman hasil transformasi yang terserang mencapai 40,8% sedangkan daun tanaman kontrol dapat terserang rata-rata hingga mencapai 98,7%. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Ambarwati dkk. yang menunjukkan bahwa kentang hibrida lebih peka terhadap serangan hawar daun dibandingkan dengan kentang Katahdin hasil transformasi.¹⁵

Tabel 2. Perbandingan Nilai AUDPC dan Skala Kepekaan Tanaman Uji

Kelompok Tanaman	Musim Kemarau		Musim Hujan	
	AUDPC	Skala Kepekaan Tanaman	AUDPC	Skala Kepekaan Tanaman
T1	11	0	858	4
T2	0	0	432	2
T3	0	0	1034	4
H1	526	1	522	2
H2	669	2	525	2
H3	0	0	821	3
K1	2039	5	1198	5
K2	3171	8	636	3

Keterangan: T = transgenik, H = hibrida, K= kontrol

Kondisi ini menunjukkan bahwa efisiensi transformasi sudah cukup tinggi dan gen *RB* dapat terintegrasi ke dalam genom tanaman kentang. Tanaman kentang transgenik juga mampu mengekspresikan produk gen *RB* yang berperan dalam sistem pertahanan terhadap serangan hawar daun. Hasil penelitian ini sesuai dengan pengujian di LUT di Michigan Agricultural Experimental Station¹⁶ dan di Minnesota, Amerika Serikat¹⁷ yang menunjukkan ketahanan kentang yang mengandung gen *RB* terhadap ras-ras *P. infestans*.

Tabel 3. Klasifikasi Tingkat Kepekaan Tanaman Uji

Kelompok Tanaman	Nilai Perbandingan AUDPC	Tingkat Kepekaan
T1	0.003–0.27	moderat–resisten
T2	0–0.14	resisten
T3	0–0.33	moderat–resisten
H1	0.16–0.17	resisten
H2	0.17–0.21	moderat–resisten
H3	0.0001–0.26	moderat–resisten
K1	0.38–0.64	moderat–peka
K2	0.20–1	resisten–sangat peka

Keterangan: T = transgenik, H = hibrida, K= kontrol

Hasil analisis statistik ANOVA ($p < 0,05$) yang dilanjutkan dengan uji LSD menunjukkan bahwa rata-rata daun yang terserang hawar daun pada ketiga kelompok uji berbeda nyata. Hasil ini dapat digunakan untuk memberikan rekomendasi bahwa sumber tanaman kentang yang resisten dapat diperoleh dari hasil transformasi ataupun hasil hibridisasi dengan kultivar lokal yang

biasa dibudidayakan oleh petani setempat. Sifat ketahanan dapat diperoleh dari induk yang mengandung gen *RB* sedangkan sifat produktivitas yang tinggi dapat diperoleh dari induk kultivar lokal seperti Atlantik dan Granola, sehingga diharapkan diperoleh produk kentang yang tahan *P. infestans* dan memiliki produktivitas panen yang tinggi. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa isolat-isolat *P. infestans* dari Jawa Barat memiliki tingkat virulensi lebih rendah terhadap kentang yang mengandung gen *RB* dibandingkan dengan kentang kontrol.

KESIMPULAN

Isolat-isolat *P. infestans* di Jawa Barat memiliki virulensi yang beragam dipengaruhi oleh ketahanan tanaman kentang. Tingkat virulensi isolat tersebut lebih rendah terhadap kentang yang mengandung gen *RB* dibandingkan dengan kentang kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. I Made Sudiana, M.Sc. atas koreksi, masukan, dan saran dalam penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹ Andrivon, D., F. Pilet, J. Montarry, M. Hafid, R. Corbiere, E. H. Achbani, R. Pelle, dan D. Ellisecche. 2006. Adaptation of *P. infestans* to partial resistance in potato evidence from French and Moroccan Population. *Phytopath.* Hlm. 338–343.
- ² Suwarno, W.B. 2008. Sistem pembenihan kentang di Indonesia. (<http://www.situshijau.co.id> diakses pada 5 September 2012).
- ³ Van der Vossen, E., Sikkema A., Hekkert BtL., Gros J., Stevens P., Muskens M., Wouters D., Pereira A., Stiekema W., dan Allefs S. 2003. An Ancient R Gene from The Wild Potato Species *Solanum bulbocastanum* Confers Broad-Spectrum Resistance to *P. infestans* in Cultivated Potato and Tomato. *The Plant Journal* 38. Hlm. 867–882.
- ⁴ Helgeson, J.P., J.D. Pohlman, S. Austin, G.T. Haberalach, S.M. Wielgus, D. Ronis, L. Zambolin, P. Tooley, J.M. McGrath, R.V. James, dan W.R. Stevenson. 1998. Somatic Hybrids between *Solanum bulbocastanum* and Potato: a new source of Resistance to Late Blight. *Theor Appl Genet.* 96. Hlm. 738–742.
- ⁵ Adiyoga, W. 2009. Cost and benefits of transgenic late blight resistant potato in Indonesia. In: Norten G.W. and Desiree M.H., (Ed.). *Projected impact of agricultural biotechnologies for fruits & vegetables in the Philippines & Indonesia.* Hlm. 86–104.
- ⁶ Russell, P. E. 2005. A century of fungicide evolution. *J. Agric. Sci.* Hlm. 143.
- ⁷ Govers, F., and Gijzen M. 2006. Phytophthora genomics: the plant destroyers genome decoded. *Mol. Plant Microb. Interact.* 19. Hlm. 1.295–1.301.
- ⁸ Herman, M. 2007. Kentang Transgenik Tahan Penyakit Hawar Daun. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 29(3).
- ⁹ Ambarwati A.D., Agus P., M. Herman, S.M. Sumaraow, dan H. Aswidinnoor. 2009. Analisis integrasi dan segregasi gen ketahanan terhadap hawar daun pada progeny F1 hasil persilangan tanaman kentang transgenik dengan non transgenik. *Jurnal Agro Biogen* 5(1). Hlm. 25–31.
- ¹⁰ Forbes, G.A., Ximena C., Escobar, Ayala C.C., Revelo J., Ordonez M.E., Fry B.A., Doucett K., dan Fry W.E. 1997. Population Genetic Structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador, *Phytopathology* 87. Hlm. 375–380.
- ¹¹ Yuen, J.E. dan G.A. Forbes. 2009. Estimating the level of susceptibility to *Phytophthora infestans* in potato genotypes. *Phytopathology* 99. Hlm. 782.–786.
- ¹² Forbes, G.A. 2009. *Assesing resistance in potato genotypes.* Peru: CIP.
- ¹³ Sujkowski, L.S. 1990. Effect of Some Factors on Detectability of Virulence Genes in *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *J. Phytopath.* 129. Hlm. 9–18.
- ¹⁴ Millett, B.P., Mollov D.S., Iorizzo M., Carputo D., dan Bradeen J.M. 2009. Changes in disease resistance phenotypes associated with plant physiological age are not caused by variation in R gene transcript abundance. *MPMI* 22 (3). Hlm. 362–368.
- ¹⁵ Jenkins, J.C., R.K. Jones. 2003. Classifying the relative host reaction in potato cultivars and breeding lines to the US-8 strain of *P. infestans* in Minnesota. *J. Plant Disease* 87: 983–990
- ¹⁶ Ambarwati, A.D., Herman M., Listanto E., Suryaningsih E., dan Sofiari E. 2012. Pengujian ketahanan klon-klon hasil silangan tanaman kentang transgenik dengan nontransgenik terhadap penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* di lapangan uji terbatas. *J. Hort* 22(2). Hlm. 187–196.

- ¹⁷Kuhl, J.C., Zarka K., Coombs J., Kirk W.W., dan Douches D.S. 2007. Late blight resistance of RB transgenic potato lines. *J. Amer. Soc.Hort. Sci.*, 132 (6). Hlm. 783–789.
- ¹⁸Bradeen, J.M., Iorizzo M., Mollov D.S., Raasch J., Kramer L.C., Millet B.P., Austin-Phillips S., Jiang J., dan Carputo D. 2009. Higher copy numbers of the potato RB transgene correspond to enhanced transcript and late blight resistance levels. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22 (4). Hlm. 437–446.